LC/MS Application News No.98

タンパク質消化物の分析（2）

No.97のアプリケーションニュースで牛血清アルブミン（BSA）のトリプシン消化物をMSモードで分析し、データベース検索した結果を報告しました。ここでは、Auto MS/MSモードの分析結果及びデータベース検索の結果を示します。

データベース検索はMASCOT（http://www.matrixscience.com）のMS/MS Ions Searchを用いました。MS/MSデータを用いることにより選択性が上がり、MSデータの場合よりもヒットスコアを上げることができます。

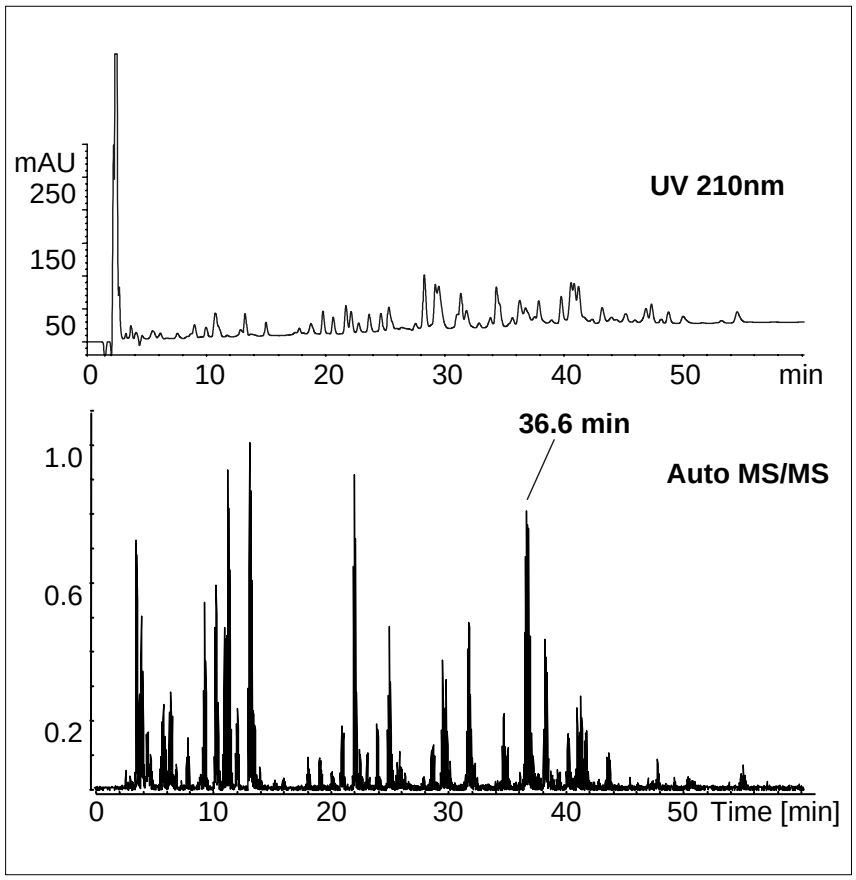

Fig.1 HPLC chromatogram and Auto MS/MS base peak chromatogrum of digested BSA（8pmol/μL）

Table 1 HPLC and MSD conditions

HPLC		MS	
Instrument	：Agilent 1100 Capillary system Capillary Pump Column Thermostat Micro Autosampler Diode Array Detector	Instrument	：Agilent 1100MSD Trap
Column	：Zorbax SB C18（3.5μm, 0.3×150mm）	Mass range	：350 ～ 2000（m/z）
Mobile phase	：A：0.05% TFA B：CH_3CN（0.05% TFA）	Ionization	：ESI
		Nebulizer	：N_2（40 psi）
		Drying gas	：N_2（8 L/min, 300 ℃）
		Polarity	：Positive
		Capillary exit	：95V
		Mode	：Auto MS/MS
Gradient	：B（5%）－（40%）－（80%）－（80%） 0min－60min－61min－75min	Auto MS/MS	：400 ～ 800（m/z）
Flow rate	：5 μl/min		
Oven temp.	：40 ℃		
Injection vol.	：0.2μl		
Sample	：Digested BSA[1)]		

1）Albumin Bovine Reduced Carboxy-methylated was digested with Trypsin

Agilent Technologies

TI 16B2G1-098
2001.9 発行

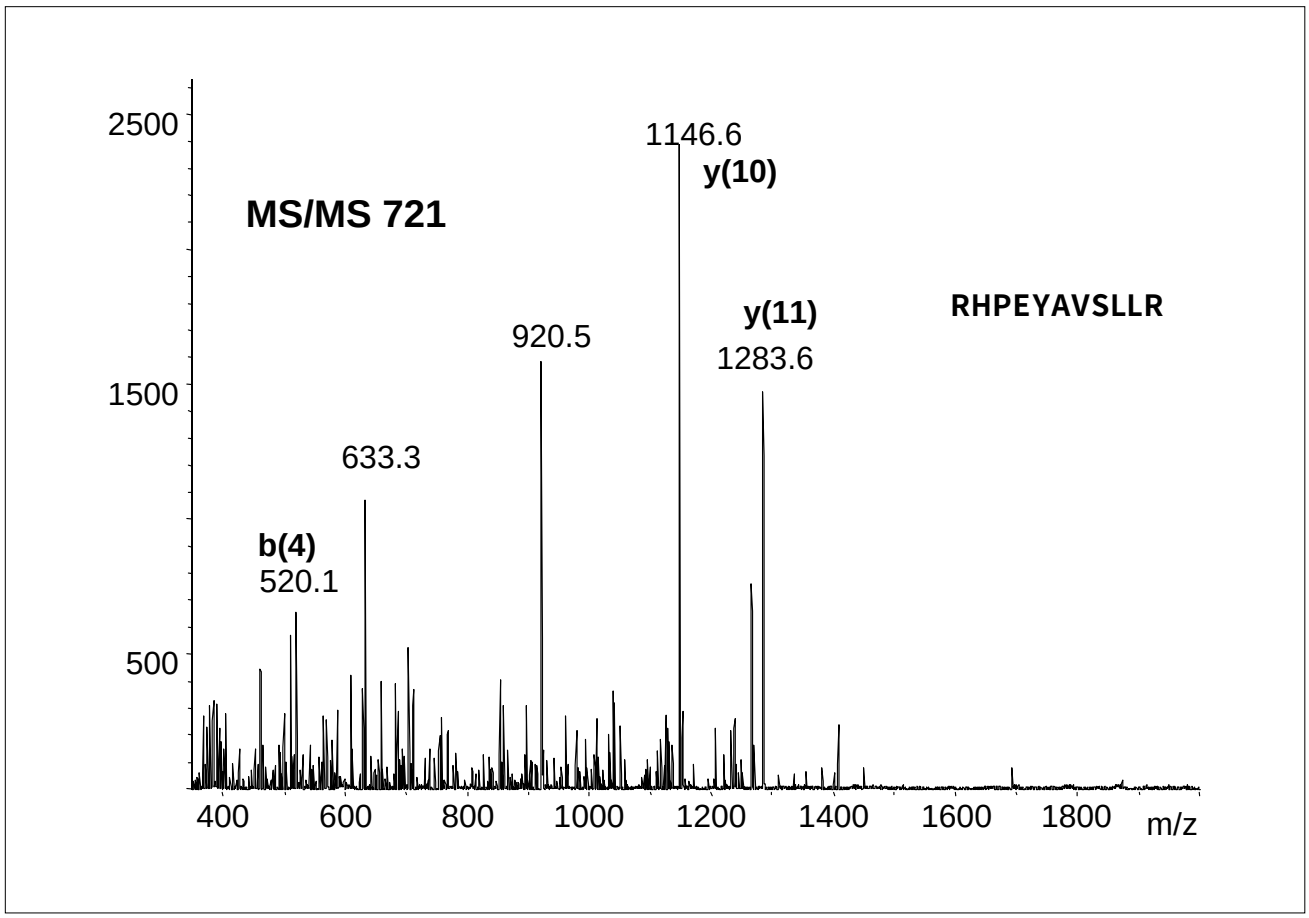

Fig.2　MS/MS spectrum of 36.6 min peak

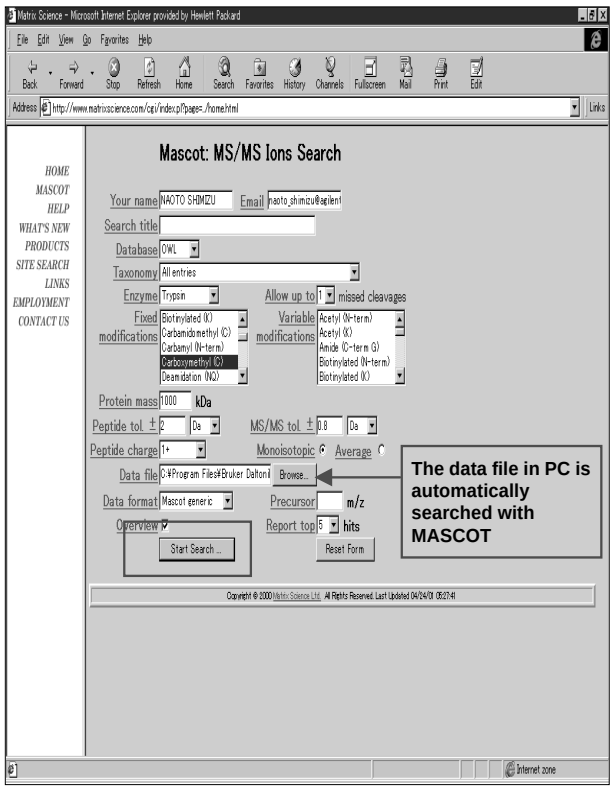

Fig.3　MASCOT Entry panel for the MS/MS Ions Search

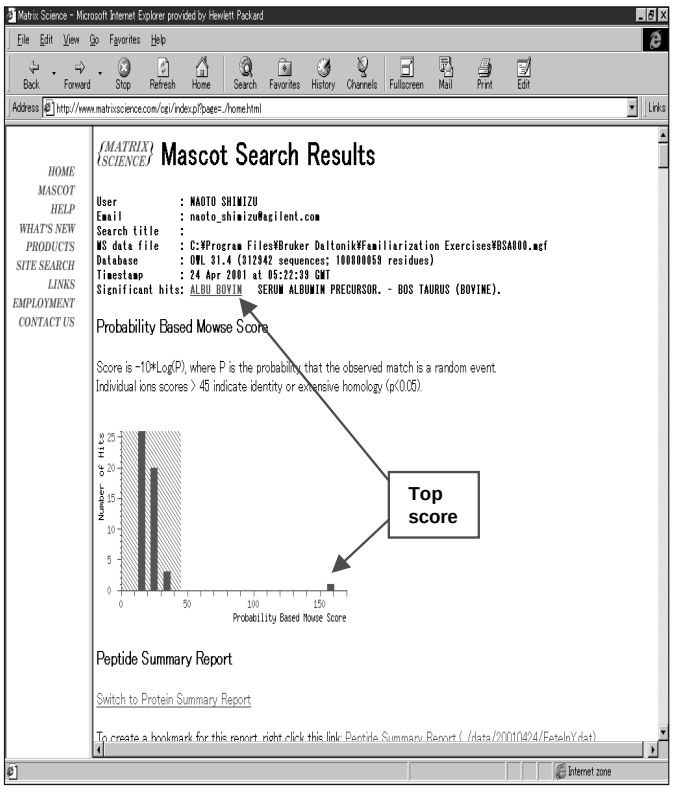
Mascot Search Results
User : NAOTO SHIMIZU
Email : naoto_shimizu@agilent.com
Search title :
MS data file : C:¥Program Files¥Bruker Daltonik¥Familiarization Exercises¥BSA000.mgf
Database : OWL 31.4 (312942 sequences; 100000059 residues)
Timestamp : 24 Apr 2001 at 05:22:39 GMT
Significant hits: ALBU_BOVIN SERUM ALBUMIN PRECURSOR. - BOS TAURUS (BOVINE).
Probability Based Mowse Score
Score is -10*Log(P), where P is the probability that the observed match is a random event.
Individual ions scores > 45 indicate identity or extensive homology (p<0.05).
Top score
Peptide Summary Report
Switch to Protein Summary Report

Fig.4　MASCOT search result（Index）of the digested BSA

本書の一部または全部を無断複製することは禁止されています。　〔記載内容は、お断りなく変更することがあります。また記載内容は検収条件ではありません。〕